UNTERSUCHUNGEN ZUR TERATOGENEN WIRKUNG VON ÄTHYLALKOHOL AUF DEN KANINCHENEMBRYO NACH ANWENDUNG DER DOTTERSACKMETHODE

KLAUS BROCK-MERLE

Düsseldorf 1981

1902

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536502_0063

Aus dem Institut für Humangenetik und Anthropologie der
Universität Düsseldorf

(Direktor: Prof. Dr. G. Röhrborn)

Untersuchung zur teratogenen Wirkung von Äthylalkohol auf den Kaninchenembryo nach Anwendung der Dottersackmethode.

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin.
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf vorgelegt

von Klaus Brock-Merle

1981

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf
gez.: Prof. Dr. Arnold

Referent:
gez.: Priv. Doz. Dr. Claussen

Koreferent:
gez.: Prof. Dr. Wirth

Gliederung

1. Einleitung

1. 1. Bedeutung der Alkoholembryopathie

1. 2. Geschichtlicher Überblick

1. 3. Die Alkoholembryopathie beim Menschen

1. 4. Pathogenese der Alkoholembryopathie

2. Problemstellung

3. Material und Methode

3. 1. Testung von Äthylalkohol auf Embryotoxizität mit der Dottersackmethode

3. 2. Messung der Äthylalkoholkonzentration in der Dottersackflüssigkeit

3. 3. Messung der Änderung der Körpertemperatur durch die Operation

4. Ergebnisse

4. 1. Ergebnisse der Testung von Äthylalkohol auf Embryotoxizität

4. 2. Ergebnisse der Messung der Äthylalkoholkonzentration in der Dottersackflüssigkeit

4. 3. Auswirkung der Operation auf die Körpertemperatur

5. Diskussion

6. Zusammenfassung

7. Literatur

1. Einleitung

1.1. Bedeutung der Alkoholembryopathie unter gesellschaftlichem Aspekt

Die Zunahme des Alkoholkonsums der Gesamtbevölkerung und der damit verbundenen Alkoholkrankheit (Abhängigkeit) hat in der letzten Zeit zu einer zunehmenden Beachtung der damit verbundenen Folgekrankheiten und insbesondere der embryonalen Schädigung durch Alkohol geführt. Neben morphologischen Veränderungen der geschädigten Kinder ist die dabei häufig auftretende geistige Retardierung schwerwiegend. Diese Kinder bedürfen einer sehr intensiven Förderung. Von besonderer gesellschaftlicher Bedeutung ist ihre Häufigkeit. Sie ist mit der des Morbus Down vergleichbar (Semaille-Vilette, 1977).

1.2. Geschichtlicher Überblick

Erfahrungen vergangener Jahrhunderte über den Zusammenhang zwischen kranken Kindern und mütterlichem Alkoholkonsum waren in Vergessenheit geraten, bis Lemoine et al. (1968) seine Beobachtungen darüber in einer international wenig beachteten Zeitschrift veröffentlichte. Er stellte fest, daß die Kinder alkoholkranker Mütter ein typisches Mißbildungsmuster aufwiesen. Eine breitere Öffentlichkeit fanden die weitgehend übereinstimmenden Beobachtungen von Jones et al. (1973).

1.3. Die Alkoholembryopathie beim Menschen

Die charakteristischen Symptome der Alkoholembryopathie wurden von Majewsky et al. (1977) anhand 76 beobachteten Fällen wie folgt nach ihrer Häufigkeit zusammengestellt:

a) Intrauterine Wachstumsverzögerung. Das durchschnittliche Geburtsgewicht von 49 zum Termin geborenen Kindern lag ca. 1200 g unter dem gesunder Neugeborener. Dieser Minderwuchs setzt sich in den folgenden Lebensjahren fort, wahrscheinlich als Ausdruck einer Verminderung der gesamten Körperzellzahl (Bierich, 1978).

b) Statomotorische und geistige Entwicklungsverzögerung. Sie zeigt sich in sehr unterschiedlich ausgeprägter Form und meist mit Besserungstendenz bei guter Förderung.

c) Mikrocephalie. Sie wird mit zunehmendem Alter immer deutlicher.

d) Hypermotilität bei gleichzeitiger Muskelhypotonie.

e) Kraniofaziale Dysmorphie. Sie ist meist bei Kindern mit mittelschwer ausgeprägter Alkoholembryopathie besonders charakteristisch geformt, so daß sie fast eine Blickdiagnose ermöglicht. Sie zeigt sich am Epicantus, Ptosis der Augenlider, Nasolabialfalten aufgrund des verminderten Unterhautfettgewebes, schmalem Lippenrot und Retrogenie, verkürztem Nasenrücken, breiter Nasenspitze, nach vorn gerichteten Narinen.

f) Anomalien der Handfurchen: Abknickung der Dreifingerfurchen mit verstärkter Ausprägung der Zwischenfingerfurche, rudimentäre Anlage der Vierfingerfurche.

g) Herzfehler, Gefäßmißbildungen und andere seltener vorkommende Fehlbildungen wie Camptodaktylie, Endphalangenhypoplasie, Zahnhypoplasie, Hüftluxation.

Die Ausprägung des Syndroms der Alkoholembryopathie ist sehr unterschiedlich. Es wurde (Majewsky, 1976) bei fließenden Übergängen einer Einteilung in drei Schweregrade vorgenommen:

UNIV. LEIDEN BIBL.

Grad I: Oligosymptomatische Fälle. Außer Minderwuchs, Untergewicht und mäßiger bis fehlender geistiger Retardierung kaum weitere Symptome.

Grad II: Mittelschwer geschädigte Kinder mit leichter bis angedeuteter craniofazialer Dysmorphie. Außer Hyperexzitabilität keine neurologischen Auffälligkeiten. Mäßige mentale Entwicklungsverzögerung.

Grad III: Schwerst betroffene Kinder mit allen oder fast allen Schädigungszeichen. Neurologisch sehr auffällig, teilweise nicht lebensfähig.

1.4. Pathogenese der Alkoholembryopathie

In den zahlreichen Veröffentlichungen zur Alkoholembryopathie wird zur Frage zur Kausalität auf verschiedene Weise Stellung genommen. Es wird diskutiert, ob der Alkohol selbst einen pathogenetischen Einfluß auf das sich entwickelnde embryonale Gewebe hat oder ob dafür der Acetaldehyd, das durch Oxidation entstehende Abbauprodukt des Äthanols (Lieber, 1976), verantwortlich ist. Übereinstimmend wird von mehreren Autoren (Majewsky, 1976/ Streissgut, 1976/ Vighelyi, 1978) anerkannt, daß kein unmittelbarer , proportionaler Zusammenhang besteht zwischen dem Maß der von der Mutter getrunkenen Alkoholmenge und dem Schweregrad der Alkoholembryopathie. Vighelyi (1978) sieht daher den in individuell unterschiedlichen Mengen anfallenden Acetaldehyd als embryotoxisches Agens an. Ein höherer Blutspiegel von Acetaldehyd wurde bei chronisch Alkoholkranken im Vergleich zu Gesunden nach Verabreichung einer identischen Menge Alkohols gefunden (Lieber, 1976). Im Hinblick auf die Pathogenese stimmt hiermit die Beobachtung von Majewsky (1976)

überein, daß der Grad der Alkoholkrankheit mit dem Grad der Alkoholembryopathie korreliert. Als weitere mögliche Ursache der Alkoholembryopathie wird die bei chronischem Alkoholabusus auftretende Mangelernährung und der Mangel an Thiamin, Pyridoxin und Folat zu erforschen sein (Baker et al., 1975).

Ein direkter pathogenetischer Einfluß des Äthanols auf den ribosomalen Proteinaufbau des Gehirns scheint insbesondere für die Alkoholencephalopathie von Bedeutung zu sein. Dies bestärkt wiederum die These einer unmittelbaren embryotoxischen Wirkung des Alkohols.
Besondere Schwierigkeiten in der Erforschung der pathophysiologischen Zusammenhänge bereitet stets die Wechselwirkung des mütterlichen Organismus mit dem embryonalen. Eine Durchlässigkeit der Plazentaschranke für Äthanol wie für Acetaldehyd ist bekannt (Idanpaän-Heikkla, 1972/ Pikkarainen, 1976). Es ist somit noch unklar, über welchem Weg die Alkoholembryopathie entsteht.

2. Problemstellung

In der vorliegenden Arbeit wird die These geprüft, daß Äthanol alleine in der Lage ist, die Alkoholembryopathie zu verursachen. Hierzu wird die embryotoxische Wirkung des Äthanols selectiv, in vivo getestet. Dies ist durch den Einsatz der Dottersackmethode möglich, bei der beim Kaninchen unter Umgehung des mütterlichen Organismus und der Plazenta direkt am Embryo in vivo getestet werden kann. Die Möglichkeit der Entstehung der Alkoholembryopathie durch Acetaldehyd oder durch andere, sekundäre, an den mütterlichen Stoffwechsel gebundene Faktoren wird damit vermieden.

Beim Einsatz der Dottersackmethode kann ein dauerhafter Alkoholspiegel beim Embryo nicht aufrecht erhalten werden, da erstens der Alkohol nur einmalig in den Dottersack injiziert werden kann und zweitens der Alkohol nach Injektion langsam in den mütterlichen Organismus übertritt. Um diese beiden Faktoren in ihrer Auswirkung zu erfassen, wurde die Alkoholkonzentration in der Dottersackflüssigkeit in Abhängigkeit von der Zeit gemessen.
Die Konzentration des auf den Embryo einwirkenden Alkohols ist außerdem abhängig von dem Volumen der Dottersackhöhle. Das durchschnittliche Volumen wurde aus den einzelnen Volumenbestimmungen nach Absaugen aller mit der Spritze aspirierbaren Dottersackflüssigkeiten errechnet.
Im Rahmen der Untersuchung auf Embryotoxizität mit der Dottersackmethode ist eine Operation unumgänglich. Durch Narkose und Operation ändert sich die Körpertemperatur des Tieres. Dieser Faktor könnte für sich alleine genommen

eine embryotoxische Wirkung nach sich ziehen. Um das Ausmaß der Temperaturänderung während des Versuchsablaufs zu erfassen, wurde die Körpertemperatur der Muttertiere vor, während und nach der Operation in regelmäßigen Abständen gemessen.

3. Material und Methode

3.1. Testung von Äthylalkohol auf Embryotoxizität mit der Dottersackmethode

Als Versuchstiere wurden Kaninchen der Rasse Weisse Neuseeländer verwendet (Kaninchenfarm Kostrop, Meerbusch-Bösinghoven). Die Tiere wurden am 9. Tag der Gestation (Tag 0 = Tag, an dem die Tiere doppelt belegt wurden) durch Tasten der Keimanlagen im mittleren Unterbauch auf das Vorliegen einer Schwangerschaft untersucht. Keimanlagen lassen sich als kirschgroße Gebilde von prall-elastischer Konsistenz durch die Bauchdecken fühlen. Die tragenden Tiere wurden zur Narkoseeinleitung in einer Pyrogenbox fixiert. Die Narkose erfolgte durch ein Äther/Sauerstoffgemisch mit Hilfe eines Ätherverdunsters (Vapor; Fa. Dräger, Lübeck) zunächst über eine Maske mit 20% Äther und 80% Sauerstoff. Nach drei bis vier Minuten wurden die Tiere auf einen Kleintieroperationstisch gelegt und in Rückenlage intubiert. Der Ätheranteil konnte dann als Erhaltungsdosis auf 6-10% reduziert werden. Das Bauchfell wurde desinfiziert (gefärbtes Dibromol^{R}) und mit einem Skalpell rasiert. Nach Abdecken des Operationsgebietes mit einem sterilen Schlitztuch erfolgte

ein ca. 8 cm langer Hautschnitt im mittleren Unterbauch längs der Mittellinie. Der Bauchraum wurde in der Linea alba eröffnet und der Uterus bicornis dargestellt.
In die Keimanlagen der einen Seite des Uterus (wobei die Seite von Tier zu Tier wechselte) wurde 10%ige Äthanol/ Kochsalzlösung injiziert. Es wurden drei Serien mit je 20 µl, 40 µl und 80 µl getestet. In die Keimanlagen der anderen Seite des Uterus wurde die Kontrollösung (physiologische Kochsalzlösung) in entsprechender Menge appliziert. Die Injektion erfolgte durch eine Terumo-Mikroliterspritze an einer möglichst blutgefäßarmen Stelle, antimesometral in den Dottersack, annähernd tangential,um ein Ausfließen der Flüssigkeit durch den Stichkanal zu vermeiden.
Nach erfolgter Injektion stellten wir die Ätherzufuhr ab. Das Peritoneum wurde zusammen mit der Bauchmuskulatur durch eine fortlaufende Naht und die Bauchhaut durch eine U-Naht, jeweils mit Seide verschlossen. Die Extubation erfolgte wegen der reichlichen Sekretion erst nach sicherer Koordination der Schluckreflexe. Ca. 10-20 Min. nach Beendigung der Operation nahmen die Tiere ihre gewohnte Hockstellung ein.
Am 28. Tag p.c. (ca. 2-3 Tage vor dem errechneten Wurftermin) wurden die Muttertiere durch Genickschlag getötet, Abdomen und Thorax eröffnet. Der Bereich der Operationsnarbe wurde auf Verwachsungen, Verklebungen und Infektionen untersucht. Bei Zeichen abgelaufener Entzündungen im Operationsgebiet oder den inneren Organen wurde das Tier einschließlich der Feten aus der Wertung genommen.

Der Uterus wurde mit den Feten entnommen und untersucht. Zunächst wurden die Resorptionen in Grad und Lage festgestellt, anschließend die Feten gezählt und für die spätere Auswertung gekennzeichnet.

Einteilung der Resorptionen:

Resorption 1. Grades: Frühstadien lassen sich kaum vom Uterusrelief unterscheiden. Sie zeigen einen gelblichen Farbton und haben eine zerklüftete Oberfläche. Der Fruchttod ist hierbei vor dem 9. Tag der Gestation eingetreten.

Resorption 2. Grades: Sie sind durch ihre papulöse Form und feste Konsistenz gekennzeichnet. Häufig finden sich gallertartige Zentren in den Resorptionsarealen. Keimanteile sind makroskopisch nicht erkennbar.

Resorption 3. Grades: Bei dieser Gruppe ist der Fruchttod spät eingetreten. Entsprechend ist ein verschieden weit entwickelter Keim zu erkennen. Die Größe der Feten spielte bei dieser Einordnung keine Rolle.

In die Auswertung (siehe Tab . 1) wurden nur Resorptionen 2. und 3. Grades aufgenommen und zusammengefaßt. Da bei Resorptionen 1. Grades der Fruchttod bereits vor dem 9. Tag der Gestation, also vor der Injektionsbehandlung eingetreten war, wurden sie bei der Auswertung nicht berücksichtigt. Zur Untersuchung auf Mißbildungen wurden die Feten obduziert. Zuerst wurde das Gewicht der Feten mit einer elektrischen Waage ($\pm$ 0,1g) bestimmt. Die Scheitelsteißlänge (SSL) bestimmte man mit Stechzirkel und Lineal ($\pm$ 0,1 cm).

Bei der Inspektion wurde geachtet auf:

Kopf: Proportionen, Größe, Augenwölbung, Augenlid (geschlossen) Schnauze (LKG), Sitz der Ohren, äußerer Gehörgang (geschlossen)
Rumpf: Proportionen, Fettverteilung, Nabel (Omphalozele), Länge des Schwanzes, Rücken (dysraphische Störungen), Brustkorb.
Extremitäten: Lage, Haltung (Klumpfuß), Größe (Dysmelien), Vollständigkeit (5 Strahlen vorn und 4 hinten).
Präparation: Nach Entfernung der Haut wurde der Durchmesser der Orbita in der Horizontalen bestimmt. Werte zwischen 6 und 8 mm wurden als normal, darunter als Mikrophtalmie eingeordnet. Auf die Ausbildung beider Fontanellen wurde geachtet. Beim Rumpf prüfte man die symmetrische Ausbildung von Baufett und die Form der Wirbelsäule (Skoliose). Der Rachen wurde auf Spaltbildungen untersucht. Mit einer Glassonde prüfte man das Vorliegen einer Ösophagusatresie und Analatresie.
Dann wurde der Bauchraum eröffnet und die inneren Organe makroskopisch auf das Vorhandensein und auf Fehlbildungen untersucht.
Die Leber nimmt nahezu vollständig den oberen Bauchraum ein, mehrere Lappen sind erkennbar. Die Gallenblase ist auf der Unterseite der Leber als längliches grün-braunes Bläschen erkennbar. Caudal der Leber ist linksseitig die mit Flüssigkeit gefüllte Magenblase erkennbar. Das Darmkonvolut füllt fast vollständig den übrigen Bauchraum aus. Die Milz ist links des Magens als rotes, längliches Organ erkennbar. Dorsal finden sich caudal der Leber in Fett eingebettet die Nieren mit nach medial austretenden Ureteren. Sie verlaufen als weißliche, dünne Stränge erkennbar caudal zur Blase. Die Gonaden sind als

längliche stecknadelkopfgroße Gebilde zwischen dem unteren Nierenpol und dem kleinen Becken zu erkennen. Danach wurden die Bauchorgane entfernt und das Zwerchfell auf Defekte unterucht. Der Kehlkopf wurde an seinem kranialen Pol von der Schlundmuskulatur abgetrennt und die Lungen zusammen mit dem Herz durch die untere Thoraxapertur hervorluxiert. Herz und Lungen wurden nicht gezielt auf Veränderungen untersucht. Nach vollständiger Entfernung der inneren Organe wurde das Skelettsystem röntgenologisch untersucht. Dazu wurde der Unterkiefer vorsichtig abgelöst, der Bulbus aus der Orbita entfernt, die Kalotte nach einem Rundschnitt abgehoben und der Kopf von der Wirbelsäule in der Höhe des Atlas abgetrennt. Vor Entfernung des Groß- und Kleinhirns wurde auf Abweichungen der Falx cerebri von der Mittellinie geachtet. Die Rippen wurden beiderseits in Höhe der hinteren Axillarlinie mit einer Schere durchschnitten und das Sternum mit den Rippenansätzen gelöst.

Um die hinteren Extremitäten abzutrennen, wurde die Symphyse in der Medianlinie durchtrennt. Die Lösung von der Wirbelsäule erfolgte mit dem Beckenknochen zusammen. Die vorderen Extremitäten wurden zusammen mit den Schulterblättern und den Schlüsselbeinen abgelöst.

Zur röntgenologischen Untersuchung wurden die vorderen und hinteren Extremitäten, die Wirbelsäule, das Sternum mit den Rippenansätzen, der Schädel, die Kalotte und der Unterkiefer ohne Überlagerungen auf einen verpackten Röntgenfilm (Structurix D 4 p DW, Agfa Gevaert, Leverkusen) nach Sterz und Notdurft (1975), verändert gelegt. Zur Anfertigung der Auf-

nahmen verwandte man einen Mammographen (Senograph, Typ Homologue). Das Gerät wurde auf 35 mA und 25 kV eingestellt. Der Abstand zwischen Tubus und Präparat betrug ca. 1 cm. Die Entwicklung der Filme erfolgte automatisch mit einem Dupont Gerät. Am Leuchtschirm wurde das Bild des Skelettsystems auf Mißbildungen untersucht:

Brustbein: Unbedeutende Variationen: Unregelmäßige Form einzelner Knochenkerne. Retardierungszeichen: Fehlen von Knochenkernen 1-4 und 6, angedeutete Doppelbildung des Sternums. Mißbildungen: Durchgehende Brustbeinspalte, S-förmige Verbiegung.

Rippen: Unbedeutend: 12. Rippe geringfügig kürzer, 13. Rippe vorhanden bzw. kürzer, kommaförmig. Retardierungszeichen: 12. Rippe fehlt, angedeutet, kommaförmig. Mißbildungen: Verwachsungen, Verbiegungen, Verdickungen, Knickung, Gabelung, Fehlen von Rippen mit und ohne Defekt der Wirbelsäule, zusätzliche Rippen.

Wirbelsäule: Unbedeutend: Geringfügige Abweichungen der Form der Wirbelkörper und Wirbelbögen. Retardierungszeichen: Zweigeteilte Wirbelkörper, mangelnde Ossifikation. Mißbildungen: Assymmetrische Wirbelkörper, Verwachsungen von Wirbelkörpern und Wirbelbögen untereinander und mit Rippen, fehlende Ossifikation von Abschnitten der Wirbelsäule.

Extremitäten: Unbedeutend: Unterschiedliche Zahl von Fußwurzelknochen (mindestens einer). Retardierungszeichen: Fehlen von Fußwurzelknochen. Mißbildungen: Fehlen, Verkürzung, Verbiegung, Verwachsung einzelner Knochen.

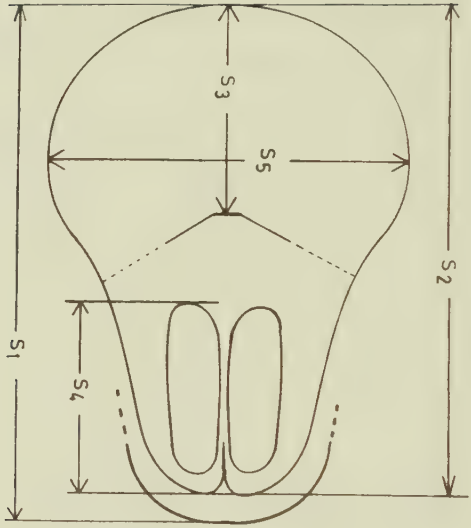

Abb. 1.: Parameter der Schädelvermessung am Röntgenbild

schädigten Kindes, wie craniofaziale Dysmorphie und wie vermindertes subkutanes Fettgewebe, verlangten gerade,die genannten Beziehungen zu untersuchen. So könnte der Vergleich der Differenzen von S_1 und S_2 die Verminderung des subkutanen Fettgewebes bei den Feten der Alkoholgruppe erkennen lassen. Die Quotienten aus S_2 und S_4 könnten anzeigen, ob die Verkürzung des Schädels vornehmlich auf eine Minderentwicklung des Gesichtsschädels zurückzuführen ist. Aus den Werten von S_3 und S_5 ergeben sich Anhalte für die Größe des Schädels bzw. des Gehirns.

In die statistische Auswertung gingen die Schädelmaße, die Scheitelsteißlänge und das Gewicht der Feten ein. Es sollte die Fragestellung geprüft werden, ob unter dem Einfluß des Alkohols eine Wachstumsretardierung, d.h. eine Verringerung der gemessenen Werte festzustellen sei. Sollte dies der Fall sein, galt es zu prüfen, ob eine Beziehung zwischen Dosis und Wirkung aufzustellen ist.

Es wurde jeweils aus den einzelnen Parametern der Kontrollgruppe und der Alkoholgruppe der Mittelwert gebildet. Aus den Mittelwerten wurde die Einflußgröße eliminiert, die darin bestand, daß das mittlere Gewicht der Feten eines Wurfes zur Anzahl der Feten umgekehrt proportional ist. Wie sich rechnerisch bestätigen ließ, kann diese Einflußgröße als annähernd linear angesehen werden. Aus den so korrigierten Werten der Alkohol- und der Kontrollgruppen wurde die Differenz gebildet. Die Kollektive der 20, 40 und 80 µl Dosis wurden separat berechnet. Aus der Größe der mittleren Differenzen ist der Einfluß des Äthanols abzulesen. Das Signifikanzniveau wurde auf

p = 0,05 festgelegt. Das Testverfahren entspricht einem t - Test für Paardifferenzen über die korrigierten Differenzen. Da Versuch und Kontrolle am selben Muttertier erfolgten, werden intraindividuelle Differenzen der Mittelwerte über die jeweiligen Uterusseiten gebildet. Die so ermittelten Differenzen sind möglicherweise wenig aussagekräftig, da die einzelne Meßgröße (und damit auch die Mittelwerte der Differenzen) durch die jeweilige Anzahl der Feten pro Uterusseite beeinflußt weren können. Dieser Einfluß wurde mit Hilfe eines Regressionsansatzes ausgeglichen. Dabei diente die Anzahl der Feten pro Uterusseite als Regressionsvariable (Kovarianzanalyse). Aus den so korrigierten intraindividuellen Differenzen wurden Mittelwerte in den einzelnen Versuchsgruppen (20, 40, 80 µl) gebildet.

3.2. Messung der Äthylalkoholkonzentration in der Dottersackflüssigkeit

Auf dem Wege der unter 3.1. beschriebenen Operationsmethode wurde wie zur Testung auf Embryotoxizität eine 10%ige Äthanollösung in drei Serien in den Mengen 20 µl, 40 µl, 80 µl in die Dottersackhöhle von Keimlingen des 9. Tages nach Gestation injiziert. Nach provisorischem Verschluß der Bauchhöhle durch Überlappen der Bauchdecken und Abdecken mit Tüchern wurde jeweils nach 2 1/2, 5, 10, 30, 60, 120 min aus den einzelnen Dottersackhöhlen die Flüssigkeit abgesaugt und einzeln in hermetisch verschließbare Meßröhrchen gefüllt.
Die Messung der Äthanolkonzentration in der aspirierten Flüssigkeit erfolgte in Einfachbestimmungen gaschromatografisch (Gaschromatograf Typ Perkin Elmer "F 40", Head-

Space-Methode, automatische Probenentnahme). Aus der Höhe der Peaks des mitlaufenden Meßwertschreibers wurden rechnerisch die Alkoholkonzentrationen ermittelt (Meßfehler unter 5%). Die Volumina von 66 einzeln mit der Spritze abgesaugten Dottersackflüssigkeiten werden gemessen und gemittelt. In die Auswertung kamen dreizehn Tiere mit insgesamt neunzig Keimanlagen. (Tuberkulin-Spritze, Ablesefehler ca. 0,01 ml)

3.3. Messung der Änderung der Körpertemperatur durch die Operation

Bei elf Muttertieren wurde vor, während und nach der Operation die Körpertemperatur thermoelektrisch bestimmt (Electrik Unoversa Thermometer, TE 3 Ellab; Meßfühler RK 2, Ø 6 mm). Die Meßgenauigkeit betrug $\pm$ 0,1°C. Der Abstand der Einzelmessungen betrug in den ersten 1 1/2 Stunden 5 min, danach 25 min (bis vier Stunden nach Narkosebeginn).

4. Ergebnisse

4.1. Ergebnisse der Testung von Äthylalkohol auf Embryotoxizität

In den drei Serien der 20, 40 und 80 µl Dosis kamen insgesamt 28 Muttertiere mit zusammen 298 Implantationen in die Auswertung.

Die Resorptionsrate war nur in der Serie der 80 µl Dosis im Vergleich zur Kontrolle signifikant erhöht (13,9%). Hier fanden sich auch deutlich mehr Feten mit Mißbildungen (12,5%).

Dagegen konnten keine signifikanten Unterschiede in der Rate der Feten mit Retardierungszeichen im Gewicht, in der Schädelgröße, in der Dicke des Unterhautfettgewebes (Differenz S_1 - S_2, Abb. 1) und in der Scheitel-Steiß-Länge zwischen Versuch und Kontrolle festgestellt werden (siehe Tab. 1). Die zur Größenbestimmung des Schädels herangezogenen Parameter (Abb. 1) S_1 - S_5 ließen weder eine signifikante Mikrocephalie erkennen, noch war eine Minderentwicklung des Gesichtsschädels (Quotient S_2/S_4) nachweisbar.

In den Serien der 20 und 40 µl Dosis fanden sich zwischen Versuch und Kontrollen keine signifikanten Unterschiede. Dies gilt für Resorptionen, Mißbildungen, Retardierungszeichen sowie für Gewicht, Schädelgröße, Dicke des Unterhautfettgewebes und Scheitel-Steiß-Länge (siehe Tab. 1). Hier gilt wie oben, daß die nach Abb. 1 herangezogenen Parameter keine Minderentwicklung des Schädels und auch keine Minderentwicklung des Gesichtsschädels erkennen ließen.

4.2. Ergebnisse der Messung der Äthylalkoholkonzentration in der Dottersackflüssigkeit

Die in der Dottersackflüssigkeit gefundenen Alkoholkonzentrationen sind in den Abb. 1, 2, 3 in Abhängigkeit von der Zeit grafisch dargestellt. Man sieht den höchsten Alkoholspiegel im Dottersack 2 1/2 min nach Injektion bei allen drei gegebenen Dosen. Er liegt bei der Dosis 80 µl bei 4,45‰ Äthanol. Bei der 40 µl Dosis sind initial 2,25‰ Äthanol, also etwa die Hälfte meßbar und bei der 20 µl Dosis 1,35‰ also etwa ein Viertel der 80 µl Dosis meßbar. Bei den zunächst in kurzen Abständen durchgeführten Messungen fällt bei allen drei Dosen die Alkoholkonzentration im Dottersack anfangs steil, später immer flacher ab. Nach 60 min sind bei der 80 µl Dosis noch ca. 1‰ Äthanol in der Dottersackflüssigkeit nachweisbar, bei der 40 µl Dosis, bzw. der 20 µl Dosis entsprechend die Hälfte bzw. ein Viertel. Nach etwa 2 Stunden nähern sich die Meßwerte aller drei Serien dem Null-Wert.

Das gemittelte Volumen aus 66 einzeln mit der Spritze abgesaugten Dottersackflüssigkeiten betrug 0,85 ml (SD = $\pm$ 0,33 ml).

4.3. Auswirkung der Operation auf die Körpertemperatur

Bei 11 Muttertieren wurde vor, während und nach der Operation die Körpertemperatur thermoelektrisch bestimmt. Der Abstand der Einzelmessungen betrug in den ersten 1 1/2 Stunden 5 min, danach 25 min (bis vier Stunden nach Narkosebeginn). Die Messungen wurden gemittelt und grafisch dargestellt (Abb. 4). Es zeigt sich nach Einleitung der Narkose in den ersten fünf

Minuten ein leichter Temperaturanstieg um 0,1°C, anschließend ein starker Temperaturabfall, der nach 75 min den tiefsten Punkt erreicht. Er liegt im Mittel 1,7°C unter der Ausgangstemperatur. Die Körpertemperatur steigt danach wieder an und erreicht ca. 120 min nach Narkosebeginn 0,8°C unter der Ausgangstemperatur. Der Anstieg flacht dann ab. Vier Stunden nach Narkosebeginn nähert sich die Körpertemperatur langsam dem Ausgangswert.

Tab. 1: Resorptionen und Retardierungen nach direkter Einwirkung von Äthylalkohol auf den Kaninchenkeim am 9. Tag der Gestation

	20 µl		40 µl		80 µl	
	Kontrolle	Versuch	Kontrolle	Versuch	Kontrolle	Versuch
Zahl der Muttertiere	11		12		14	
Implantationen	42	34	36	50	55	72
Resorptionen (%)	2 (4,8)	3 (8,8)	5 (13,9)	7 (14,0)	1 (1,8)	10 (13,9)*
Lebende Feten	40	31	31	43	52	64
Feten mit Mißbildungen (%)	2 (5,0)	1 (3,2)	2 (6,5)	3 (7,0)	1 (1,9)	8 (12,5)*
Retardierte Feten (%)	3 (7,5)	3 (9,7)	2 (6,5)	2 (4,7)	1 (1,9)	1 (1,6)

* Dieser Prozentsatz ist im Vergleich zur Kontrolle signifikant erhöht ($p = 0,05$)

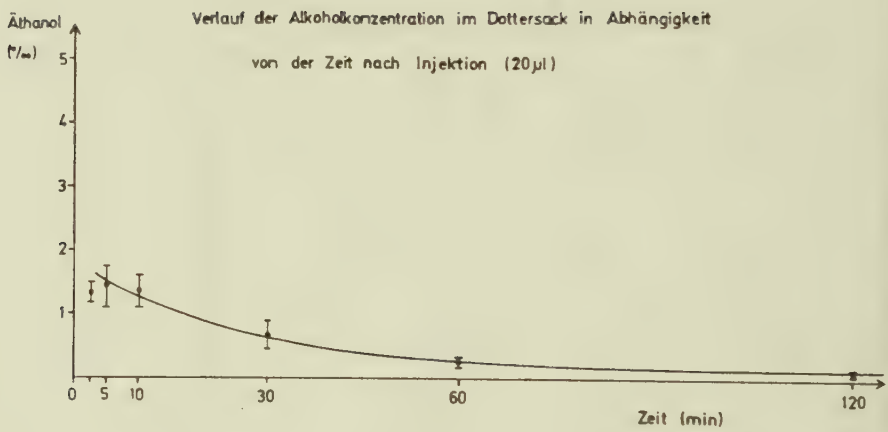

Abb. 1.: Die Konzentration des Alkohols im Dottersack in zeitlicher Abhängigkeit nach Injektion

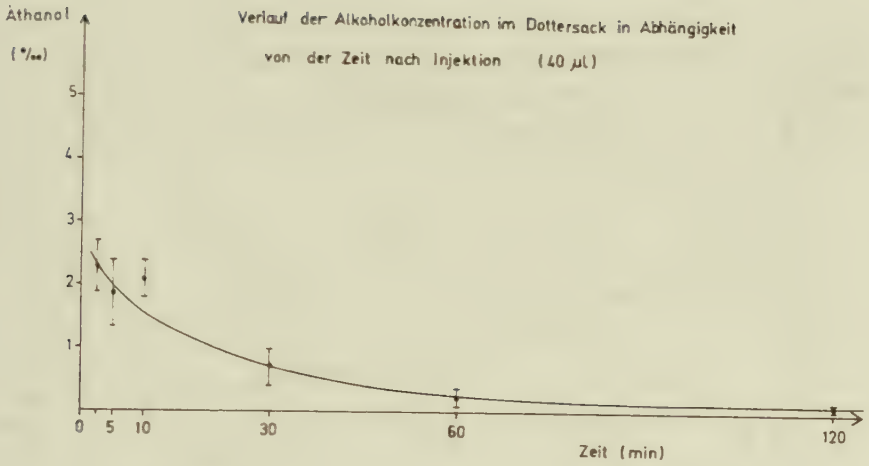

Abb. 2.: Die Konzentration des Alkohols im Dottersack in zeitlicher Abhängigkeit nach Injektion

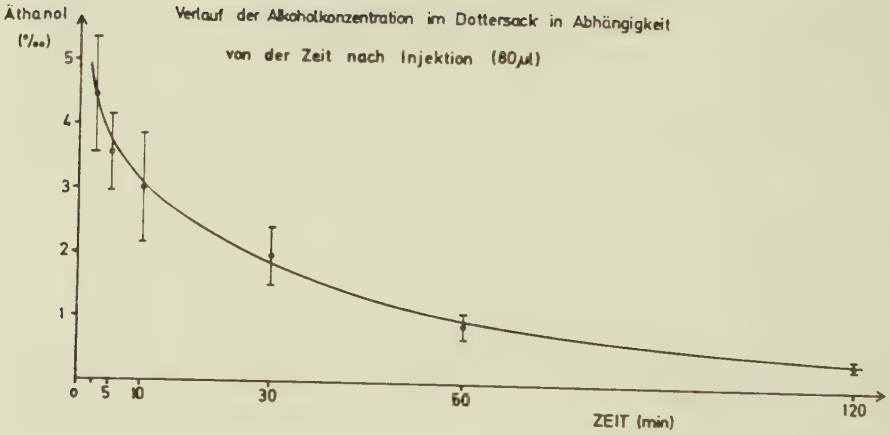

Abb. 3.: Die Konzentration des Alkohols im Dottersack in zeitlicher Abhängigkeit nach Injektion

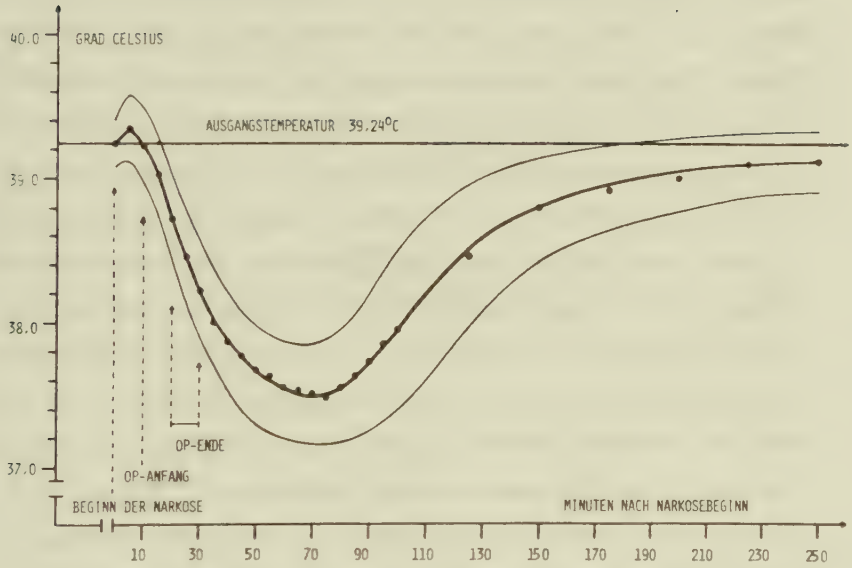

Abb. 4.: Der Verlauf der Körpertemperatur vor, während und nach der Operation

5. Diskussion

Nachdem in den USA (Jones et al. 1974, Rosett 1974, Mulvihill et al. 1976) und Europa (Lemoin 1968, Majewski 1976) eine genaue Beschreibung und die Charakteristik eines typischen Mißbildungsmusters beim Menschen veröffentlichten, gewannen eine Reihe von Untersuchungen über die Teratogenität des Äthylalkohols an Tieren eine besondere Bedeutung. In den Tierversuchen konnten in Abhängigkeit von der (meist oral) zugeführten Alkoholmenge Mißbildungen verschiedener Art nachgewiesen werden. So zeigten Sander und Elias (1968) äthanolinduzierte Gehirn- und Rückenmarksmißbildungen an Ratten- und Hühnerembryonen. Eine erhöhte Rate an Totgeburten und Neugeborenensterblichkeit sowie vermindertes Geburtsgewicht und motorische Störungen der Neugeborenen fanden Parpara-Nicholson und Telford (1958) an alkoholisierten Meerschweinchen. Nach einmaliger intraperitonealer Injektion von Alkohol (5-7 g/kg Körpergewicht) in tragende Mäuse beobachtete Kronich (1976) Mißbildungen der Augen, Vorderpfoten, ableitende Harnwege, des Gefäßsystems und des ZNS. Ähnliche Veränderungen fand Randall (1977) an Mäusen, denen der Alkohol oral in Form einer zur Kontrollgruppe kalorienäquivalenten Diät zugeführt wurde. Die Untersuchung erfolgte in der Zeit vom 5.-11. Tag der Gestation. Diese Zeit stellt für die Mäuse die kritische Phase der Embryonalentwicklung dar.

Im Widerspruch zu diesen Ergebnissen steht die Arbeit von Schwetz et al. (1978), der an Ratten und Mäusen, die vom 6.-15. Tag der Gestation und Kaninchen, die vom 6.-18. Tag der Gestation Alkohol erhielten, keine grob- oder feingeweb-

lichen Veränderungen feststellte. Es zeigte sich lediglich ein signifikanter Anstieg kleinerer Skelettveränderungen bei Mäusen und Ratten. Dieser konnte aber nicht einer alkoholspezifischen Wirkung zugeschrieben werden.
Besonderen Wert auf das Modellhafte seines Versuchs und seine Übertragbarkeit auf die menschliche Situation legte Chernoff (1976) in seinem Tiermodell (Mäuse). Er legte als wesentliche Kriterien dafür vor allem fest: 1) orale und kontinuierliche Alkoholzufuhr, 2) BLutspiegel ständig größer als 100 mg/dl, 3) ausreichende kalorische Ernährung mit mindestens 25% Alkoholanteil an der Gesamtkalorienzahl , 4) Intoxikation am Verhalten feststellbar, 5) physische Sucht, 6) Intoxikation vor und während der Tragzeit. Unter Einhaltung dieser Bedingungen gelang es, bei den Mäusefeten ein Muster von Mißbildungen zu erzeugen, welches auch bei Kindern mit Alkoholembryopathie beobachtet wurde. Vergleichbar waren die pränatale Wachstumsverzögerung, Knochenanomalien, wie mangelnde Ossifikation und Skelettdysmorphien, Störungen des ZNS, Herzfehler, Augenlidveränderungen. Es darf daher mit Einschränkung davon ausgegangen werden, daß eine Alkoholembryopathie, wie beim Menschen beschrieben, in ähnlicher Form auch bei Nagetieren entstehen kann.
Die Wahl des Kaninchens als Versuchstier war im Wesentlichen von der Methode her bestimmt. Die direkte Applikation des Alkohols in den Dottersack erfordert eine bessere Übersichtlichkeit und Handlichkeit von der anatomischen Größe der Organlagen her. Außerdem findet bei diesem Tier ein wesentlicher Anteil der embryonalen Nutrition über die Dottersackwand statt, zumindest in der in Frage kommenden Phase der Gestation.

Die Möglichkeit der direkten Applikation eines Stoffes in den Dottersack erlaubt, die Testung ohne wesentliche Interaktionen mit dem mütterlichen Stoffwechsel durchzuführen.
Bei oraler Zufuhr von Äthylalkohol entsteht durch Dehydrierung durch das Enzym Alkoholdehydrogenase (ADH) in der mütterlichen Leber sofort, in individuell unterschiedlicher, aber beachtenswerter Dosis Acetaldehyd (Lieber 1976). Außerhalb der mütterlichen Leber findet sich keine oder fast keine ADH. In der fetalen Leber des Menschen konnten Pikkarainen und Räiha (1967) eine Aktivität der ADH von allenfalls 3-4 % der beim Erwachsenen nachweisen (bezogen auf das Lebergewicht). Daher kann man davon ausgehen, daß die beobachteten Auswirkungen der Alkoholzufuhr in den Dottersack allein auf den Alkohol selbst zurückzuführen sind.
Der Einfluß der Versuchsbedingungen auf die teratogene Wirkung des Alkohols darf nicht unberücksichtigt gelassen werden. Als Faktoren, die möglicherweise embryotixisch wirken oder in Kombination mit einem Agens oder untereinander diese Wirkung entfalten, müssen gelten: 1) der Einstich in den Dottersack, 2) die Äthernarkose, 3) die operationsbedingte Hypothermie, 4) das in den Dottersack injizierte Lösungsmittel, 5) die Manipulationen an den Keimanlagen während der Operation.
Der Einstich in die Keimanlage kann eventuell zum Auslaufen der Dottersackflüssigkeit führen. Dies wird weitgehend durch den tangentialen Einstich verhindert. Außerdem wurden die Keimanlagen bei der Operation auf eventuelles Ausfließen beobachtet.
Nach mehrstündiger Äthernarkose konnten Grote und Lennartz (1968) keine Veränderung am Kaninchenembryo nachweisen.

Allerdings muß die Äthernarkose wegen ihrer Auswirkungen auf den Säure-Basen-Haushalt und die Atmung (Gabbard et al. 1952 / Conway 1965 / Smith 1968) trotzdem als potentiell embryotoxisch angesehen werden.

Auf die Embryotoxität der Hypothermie wurde in der vorliegenden Arbeit besonders geachtet, da Grote und Lennartz (1968) zeigten, daß eine Hypothermie beim Kaninchen Dysplasien des embryonalen Skelettsystems verursachen kann. Zum Nachweis wurde die Körpertemperatur von Kaninchen am 9. oder 10. Tag der Gestation auf 25 - 27,5°C gesenkt, also um ca. 13°C erniedrigt. Vergleichsweise erscheint eine Temperatursenkung hier um 1,7°C im Mittel (SD = ± 0,3°C) als vernachlässigenswert. Der Temperaturabfall erscheint außerdem weniger verursacht durch exogene Wärmeverluste wie Abkühlung durch Verdunstung des Desinfektionsmittels und der serösen, abdominellen Flüssigkeit, sondern durch Einflüsse des Äthers auf die zentralen temperaturregulierenden, hypothalamischen Zentren. Dies wird aus dem zeitlichen Ablauf sowie der verhältnismäßig großen Streubreite der Temperaturänderung ersichtlich.

Das in den Dottersack injizierte Lösungsmittel (physiologische Kochsalzlösung) führt einerseits zu einer Volumenerhöhung, andererseits zu einer Elektrolytverschiebung in der Dottersackflüssigkeit. Fügt man zum gemittelten Volumen der Dottersackflüssigkeiten (0,85 ml) die von uns im Versuch gegebene Höchstdosis von 80 µl (= 0,08 ml) hinzu, ergibt sich eine Volumenerhöhung von ca. 10%. Bedenkt man die außerordentlich hohe Stoffwechselaktivität der embryonalen Gewebe, so dürfte diese Volumenerhöhung in kurzer Zeit korrigiert sein.

Das Gleiche mag für die Verdünnung der Elektrolyte zutreffen, die dadurch entsteht, daß die "physiologische" NaCl-Lösung eben nur im NaCl-Gehalt der Körperflüssigkeit angepaßt, aber sonst elektrolytfrei ist. Sollten die Volumen- und Elektrolytveränderungen wesentlichen Einfluß auf die Entwicklung der Keimanlagen haben, wären bei den Kontrolluntersuchungen in den verschiedenen Serien der 20, 40 und 80 µl Dosis wesentliche Unterschiede in der Resorptions- und Mißbildungsrate und Rate der Feten mit Retardierungszeichen aufgetreten. Dies war aber nicht der Fall.

Die Manipulationen an den Keimanlagen dürften bezüglich ihrer möglichen embryotoxischen Wirkung der am schwersten einzuschätzende Faktor sein. Diese empfindlichen Gebilde werden bei der Untersuchung manuell hervorluxiert und bei der Injektion mit den Fingern festgehalten. Wichtig ist, durch großzügige Eröffnung des Bauchraumes einer venösen Stauung des hervorluxierten Uterus vorzubeugen. Diese ist an einer zunehmend lividen Verfärbung der Keimanlagen zu erkennen (Claussen 1975). Weiterhin darf beim Festhalten der Keimanlagen möglichst kein Druck auf sie ausgeübt werden. Wenn dies auch noch nicht eingehend untersucht ist, so erscheint jedoch eine mögliche embryonale Schädigung durch Druck als sehr wahrscheinlich. Durch entsprechende Übung bei einer großen Zahl von Versuchstieren bemühten wir uns, die mechanischen Schädigungen weitgehend zu vermeiden, aber selbst dann sind die Manipulationen an den Keimanlagen nicht standardisiert durchzuführen.

Da, wie oben beschrieben, Versuchslösung und Kontrollösung stets bei ein und demselben Tier angewendet werden, wirken

alle Faktoren auf die Keimanlagen gleichmäßig ein. Daher können eventuell auftretende Mißbildungen auf den getesteten Stoff, eventuell auf seine Kombination mit den genannten Faktoren zurückgeführt werden. Im übrigen erscheint die embryotoxische Wirkung dieser Faktoren für sich alleine genommen als so gering, daß von ihnen wahrscheinlich kein erkennbarer Einfluß ausgeht.

Wie aus den Abbildungen 1, 2, 3 zu entnehmen ist, finden sich bei allen drei in den Dottersack applizierten Äthanolmengen kurz nach der Injektion sehr hohe Spiegel in der Dottersackflüssigkeit. Dann fällt die Alkoholkonzentration durch die Umverteilung in den gesamten (mütterlichen) Organismus zunächst steil, später immer flacher ab. Der 0-Wert ist nach etwa 2 - 4 Stunden erreicht. Berücksichtigt man die eigenen Beobachtungen, daß die Größe der Keimanlagen zwar innerhalb eines Muttertieres relativ konstant ist, aber von Tier zu Tier erheblich schwanken kann, kann man davon ausgehen, daß die Dauer der Einwirkung des Alkohols auf den Keim im Teratogenversuch je nach applizierter Menge bei 2 - 4 Stunden liegt.

Die Ergebnisse zeigen, daß Alkohol allein in hoher Dosierung durchaus imstande ist, Mißbildungen zu erzeugen. In der Serie der 80 µl Dosis konnte ein signifikant höherer Anteil an Feten mit Mißbildungen, Retardierungszeichen und ein höherer Anteil an Resorptionen gefunden werden. Ein signifikanter Unterschied der Scheitel-Steiß-Länge konnte bei Versuch und Kontrolle nicht festgestellt werden. In ihrer Charakteristik sind diese Mißbildungen jedoch nicht unbedingt mit denen in der Alkoholembryopathie, wie sie beim Menschen beschrieben wurde, zu vergleichen. Vor allem fehlt die intrauterine Wachstumsverzögerung, die Mikrozephalie und die kraniofasziale Dysmorphie.

embryopathie noch überhaupt eine erhöhte Mißbildungsrate im Vergleich zur Kontrolle festgestellt werden.
Überträgt man dieses Ergebnis auf die menschliche Situation, läßt sich mit der Einschränkung, die man bei der Übertragung eines Tiermodells auf den Menschen grundsätzlich machen muß, sagen, daß ein einmaliger Alkoholabusus der Mutter.während der Frühschwangerschaft nicht unbedingt eine erkennbare Schädigung des Kindes verursachen muß. Dies stimmt mit der bisherigen Beobachtung (Majewski 1976) überein, daß Mütter im Prodromalstadium der Alkoholkrankheit in der Regel keine erkennbar geschädigten Kinder gebären.
Aus technischen Gründen ist mit der Dottersackmethode keine Langzeiteinwirkung von Alkohol auf den Kaninchen-Embryo testbar. Dies ist jedoch bei in vitro Untersuchungen möglich. Nigel A. Brown, E.H. Goulding und S. Fabro (1978) gelang es, Embryos der Ratte von 9 1/2 Tagen der Gestation über 48 Stunden in einem Nährmedium zu kultivieren. Sie verglichen drei randomisierte Gruppen von Embryos. Dem Nährmedium der ersten Gruppe wurde während der Bebrütungszeit von 48 Stunden eine 3%oige Äthanollösung zugesetzt, der zweiten Gruppe eine 1,5%oige Äthanollösung. Die dritte Gruppe erhielt ein äthanolfreies Medium. Es wurde das morphologische Wachstum von Embryo, Dottersack und Plazenta, sowie deren DNA- und Proteingehalt gemessen. Die beiden letzten Parameter dienten, Zellzahl und Größe zu ermitteln. Es konnte festgestellt werden, daß eine dosisabhängige Wachstumsretardierung besteht, wobei die Zellgröße konstant blieb. Da unter in-vitro Bedingungen allein der Äthanol als Ursache der Veränderungen in Frage kommt, ist zu-

mindest seine Mitwirkung an den typischen Veränderungen bei der Alkoholembryopathie wahrscheinlich. Immerhin sind viele dieser Veränderungen auf Wachstumshemmungen zurückzuführen. Der Vorteil dieser in-vitro Methode im Vergleich zur Dottersackmethode liegt sicher in der Möglichkeit, eine über einen längeren Zeitraum einwirkende Noxe prüfen zu können. Dagegen sind die Lebens- und Wachstumsbedingungen für den Keim bei einer in-vivo Methode sicher natürlicher und damit auch vergleichbarer mit den Bedingungen des menschlichen Keimlings. Andere pathogenetische Mechanismen als die des Alkohols bei der Entstehung der Alkoholembryopathie spielen sicher auch eine große, wahrscheinlich wechselseitig verstärkende Rolle und bedürfen der zukünftigen Prüfung.

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird die embryotoxische Wirkung des Äthanols in unveränderter Form am Kaninchen am 9. Tag der Gestation untersucht. Hierbei wird unter Umgehung des mütterlichen Organismus und der Plazenta in vivo Äthanol in den Dottersack injiziert. Drei Serien mit 20, 40 und 80 µl Äthanollösung wurden getestet. Am 28. Tag der Gestation wurden die Feten auf Mißbildungen untersucht und auf Resorptionen geachtet. Der Konzentrationsverlauf des Alkohols im Dottersack wurde gaschromatographisch gemessen.

Die Ergebnisse zeigen, daß Äthanol bei einmaliger Anwendung, die in ihrer zeitlichen Wirkung 2 - 4 Stunden dauert, in hoher Dosierung (80 µl Dosis, entsprechend ca. 9,4 ‰ Äthanol) Mißbildungen verursachen kann. Die beim Menschen beschriebene Alkoholembryopathie konnte in ihrem bekannten Mißbildungsspektrum nicht reproduziert werden. In niederer Dosierung (20 und 40 µl Serie, entsprechend 2,3 ‰ und 4,7 ‰ Äthanol) sind im Vergleich zur Kontrolle keine embryotoxischen Wirkungen beobachtet worden.

Es wird angenommen, daß der Äthanol allein nach kurzzeitiger Einwirkung auf den Embryo in für den Menschen relevanter Dosis nicht in der Lage ist, die Embryonalentwicklung erkennbar zu stören.

Die beim Einsatz der Dottersackmethode unumgängliche Anästhesie hat eine Hypothermie zur Folge, die sich neben anderen Faktoren als potentiell embryotoxischer Faktor störend auswirken könnte. Der auftretende Temperaturabfall wurde vor, während und nach der Anästhesie elektrothermisch bestimmt. Er lag im Mittel bei maximal 1,7°C 75 min nach Operationsbeginn. Nach etwa 4 Stunden war der Ausgangswert wieder erreicht. Bei der

Untersuchung mit der Dottersackmethode muß die Hypothermie somit als mögliches Teratogen oder Coteratogen berücksichtigt werden.

7. Literatur

ABLE, E.L. 1978 Effects of ethanol on pregnant rats and Huir offspring Psychopharm. 57 : 5-11

BIERICH, J.R., R. MAJEWSKI, R. MICHAELIS and J. TILLNER 1976 On the embryo-fetal alcohol-syndrome Europ. J. Pediat., 121 : 155-179

BRINGMANN G. 1978 Chemische Mechanismen der Alkohol-Wirkung Internist 19, 131-139

BROWN, NIGEL A., 1979 Ethanol Embryotoxicity: Direct Effects on Mammalian Embryos in vitro Science, Vol. 206, 573-575

CHERNOFF, G.F. 1977 The fetal Alcohol Syndrome in mice : An animal Modell Teratology, 15 : 223-230

CHRISTOFEL, K. , KAND S. SALAFSKY 1975 Fetal Alkohol Syndrome in Dizygotic Twins The J. of Ped. Vol. 87, Nr. 6, 963-967

CLAUSSEN, U. 1975 Zur Methode der Applikation in den Dottersack bei teratologischen Untersuchungen am Kaninchen Drug Research 25, 9, 1434-1436

DILTS, P.V., 1970 Jr.: Placental tansfer of ethanol. Amer. J. Obstet. Gynec. 107: 1195-1198

McGUFFIN, R., P. GOFF and R.S. HILLMANN
The Effect of Diet and Alcohol on the Development of Folate Deficiency in the Rat
Brit. J. of Haematology, 31, 185

HANSON, J.W., K.L. JONES, D.W. SMITH
1976 Fetal Alcohol Syndrome, Experience with 41 Patients
JAMA 235: 1458-1460

IJAIYA, K., A. SCHWENK und E. GLADTKE
1976 Fetales Alkohol-Syndrom
Dtsch. med. Wschr. 101: 1563-1568

JONES, K.L. and D.W. SMITH
1973 Recognition of the fetal alcohol-syndrome in early infancy
Lancet, 2: 999-1001

JONES, K.L., D.W. SMITH, C.N. ULLELAND and A.P. STREISSGUTH
1973 Pattern of malformation in offspring of chronic alcoholic mothers
Lancet 1: 1267-1271

JONES, K.L., D.W. SMITH, A.P. STREISSGUTH and N.C. MYRIANTHOPOULOS
1974 Outcome in offspring of chronic alcoholic women
Lancet 1: 1076-1078

JONES, K.L. and D.W. SMITH
1975 The Fetal Alcohol Syndrome
Teratology 12: 1-10

KRONICK, J.B. Teratogenic effects of ethylalcohol administered to pregnant mice
Amer. J. Ostet. Gynec., 124: 676-680

KUHN, M. und T. LOOGEN
1978 Die Wirkung von Alkohol auf das Herz einschließlich der Alkoholkardiomyopathie
Der Internist 19, 97-106

LEMOINE, P., H. HARRONSEAN, J.P. BORTEGRU und I.C. MENNET
1967 Les enfants de parents alcoholiques: Anomalies observees apropos de 127 cas. Arch. Fr. Pediat., 25: 830-832

LIEBER, C.S. Interference of ethanol in hepatic
1975 cellular metabolism.
Am. N.Y. Acad. Sie. 252: 24-50

LIEBER, C.S. and L.M. DeCARLI
1970 Hepatic microsomal ethanol-oxidising system: in vitro characteristics and adaptive properties in vivo.
J. Biol. Chem. 245: 2505-2512

LIEBER, C.S. The Metabolism of Alcohol
1976 Scientific American Vol. 234 Nr. 3

LINDROS, K.O., T. KOIVULA and C.I.P. ERIKSSON
1975 Acetaldehyde levels during Ethanol Oxidation: A Diet-induced Change and its Relation to liver Aldehyde Dehydrogenases and Redox States.
Life Sci. Vol. 17, 1589-1598

LÖSER, H.F. MAJEWSKI, I. APITZ, I.R. BIERICH
1976 Kardivaskuläre Fehlbildungen bei embryofetalem Alkohol-Syndrom
Klin. Pädiat. 198. 233-240

LÖSER, H. Alkoholembryopathie und Frauenalkoholismus
1980 Die Schwester/ Der Pfleger 6/80 414-424

MAJEWSKI, F., I.R. BIERICH, H. LÖSER, R. MICHAELIS, B. LEIBER, F. BETTECKEN
1976 Zur Klinik und Pathogenese der Alkoholembryopathie
Münch. Med. Wschr. 118, 1635

MAJEWSKI, F., I.R. BIERICH, R. MICHAELIS
1977 Diagnose Alkoholembryopathie
74 Ig. S. 1133-1136

MULVIHILL, I.J. and YEAGER, A.M.

1976 Fetal alcohol syndrome

Teratopology 13: 345-348

MULVIHILL, I.J., I.T. KLIMAS, D.C. STOKES, H.M. RISEMBERG

1976 Fetal Alcohol Syndrome: Seven New Cases

Amer. J. of Ostet. and Gynac., Vol. 125, 937-941

PALMER, R.M., M.B., B.Ch., S.M. in HYGIENE, E.M. OUELLETTE, M.D.

1974 L. WARNER, M. S. WARD, S.R. LEICHTMAN, Ph. D.

Congenital Malformations in Offspring of a Chronic Alcoholic Mother

Pediatries Vol. 53, Nr. 4

PARPARA-NICHOLSON + TELFORD:

1957 Effects of alcohol on reproduction and fetal development in the guinea-pig

Anat. Rec. 127: 438-439

PIKKARAINEN, P.H. and RAIKA, N.C.R.

1976 Development of alkohol-dehydrogenase activity in the human liver.

Pediat. Res. 1: 165

RAMP, W.K., W.C. MURDOCK, W.A. GONNERMAN and T.C. PENG

1975 Effects of Ethanol on Chicks in vivo and on Chick Embryo Tibiae in Organ Culture

Calcif. Tiss. Res. 17, 195-203

RANDALL, C.L., W.J. TAYLOR and D.W. WALKER

1977 Ethanol-induced malformations in mice.
Alcoholism: Clin. Exp. Res., 1: 219-224

ROSETT, H.L.

1976 Effects of Maternal Drinking on Child Development:
An Introductory Review

SANDOR + ELIAS

influence of ethylalkohol on the development of chick-embryo
Rev. Romm. Embryol. 3: 57-76

SCHWERTZ, B.A., F.A. SMITZ and R.E. STAPLES

1978 Teratogenic Potential of Ethanol in Mice, Rats and Rabbits
Teratology 18: 385-392

SIPPEL, H.W. and KESANIEMI, Y.A.

1975 Placental and Foetal of metabolism of acetaldehyde in rat
I. Contents of ethanol and acetaldehyde in placenta and foetus of the pregnant rat during ethanol oxidation
II. Studies on metabolism of acetaldehyde in the isolated placenta and foetus
Acta Pharmacol. et Toxicol. 37: 43-55

STREISSGUTH A.P.

1976 Maternal Alcoholism and the Outcome of Pregnancy: A Review of the Fetal Alcohol Syndrome Alcoholism Problems in Women + Childrens Milton Greenblatt, M.D. + M.A. Schucht Ed.

TOTTMER, O., H. Marchner

1976 Dislufiram as a Tool in the Studies on the Metabolism of Acetaldehyde in Rats Acta. pharmacol. et toxicol. 38, 366-375

TZE, W.I. and LEE, M.

1975 Adverse effects of maternal alcohol consumption on pregnancy and foetal growth in rats. Nature 257: 479-480

TZE, W.J., M.G. FRIESEN and P.M. MACLEOD

1976 Growth hormone response in fetal alcohol syndrome Arch. of Disease in Childhood, 703

VIGHELYI, P.V., M. OSZTOVICS, G. KARDOS, L. LEISZTNER, E. SZASZOVSZKY, S. IGALI and I. IMREI

1978 The fetal alcohol syndrome: symptoms and pathogenesis Acta paed. Acad. Sci. Hungaricae 19 171-189

WARNER, R.M. and M.L. ROSETT

1975 The effects of drinking on offspring: an historical survey of the American and British Literature I. Stud. Alc., 36: 1395-1420

DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. G. Röhrborn danke ich für die Überlassung des Themas.

Herrn Priv. Doz. Dr. U. Claussen danke ich für seine wertvollen Hinweise und Anregungen.

Herrn Prof. Dr. H. Schweitzer (Institut für Rechtsmedizin) möchte ich für die Unterstützung bei der Alkoholkonzentrationsbestimmung danken.

Für die Hilfe bei der statistischen Auswertung der Arbeit gilt mein Dank Herrn Dr. Trampisch und Herrn Dr. Schäfer (Institut für Medizinische Statistik und Biomathematik).

Lebenslauf

Am 6. Februar 1950 wurde ich, Klaus Brock-Merle, geb. Brock, als Sohn des Ingenieurs Gerhard Brock und seiner Frau Margarethe Brock, geb. Hakenbug in Essen-Barbeck geboren.

Ab 1956 besuchte ich die Volksschule in Essen-Überruhr, ab 1960 das Carl-Human-Gymnasium in Essen-Steele. Das Abitur legte ich 1969 am Städt. Gymnasium Dormagen ab.

Von 1969 bis 1971 leistete ich Wehrdienst beim Bundesgrenzschutz in Uelzen.

Im Wintersemester 1971/72 begann ich mit dem Studium der Medizin an der Universität Düsseldorf. Im Mai 1978 bestand ich die Ärztliche Prüfung.

Von 1978 bis 1980 arbeitete ich als Assistenzarzt in der Lungenklinik des Diakoniewerkes in Düsseldorf-Kaiserswerth, ab Oktober 1980 in der Medizinischen Klinik des Kreiskrankenhauses Dormagen. Ich bin seit 1979 mit Frau Gabriele Merle verheiratet; wir haben eine einjährige Tochter.

Druck und Verarbeitung: copy shop, darmstadt, tel. 21353